Aus der Universitäts-Poliklinik München
Vorstand: Professor Dr. Richard May.

Über das Verhalten der roten Blutkörperchen bei Vitalfärbung

(ausgenommen die eigentlichen Blutkrankheiten).

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und vorgelegt einer
Hohen medizinischen Fakultät
der Bayr. Ludwig-Maximilians-Universität in München
von

IWAN JONKOW
aus Tirnowo (Bulgarien)

München 1926
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Aus der Universitäts-Poliklinik München
Vorstand: Professor Dr. Richard May.

Über das Verhalten der roten Blutkörperchen bei Vitalfärbung

(ausgenommen die eigentlichen Blutkrankheiten).

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und vorgelegt einer
Hohen medizinischen Fakultät
der Bayr. Ludwig-Maximilians-Universität in München
von

IWAN JONKOW
aus Tirnowo (Bulgarien)

München 1926
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Gedruckt
mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät München.
Referent: *Professor Dr. Richard May*

Meinen lieben Eltern gewidmet!

Außer den von P. Ehrlich erfundenen, für die Hämatologie so wertvollen Methoden der Färbung des fixierten Blutausstriches, wendet man in neuerer Zeit seine Aufmerksamkeit auch einer weiteren Färbung, deren Prinzip ebenfalls von diesem Meister bereits angegeben wurde, zu, nämlich der sogen. Vitalfärbung des Blutes. Man versteht darunter eine Färbung des frischen, also nicht angetrockneten, bezw. gehärteten und fixierten Blutes. Daß die Blutkörperchen bei den Austrocknungsverfahren absterben, ist wohl sicher anzunehmen, ob sie bei der „Vitalfärbung" noch leben, und ob der für diese Färbung gewählte Name daher ganz richtig ist, ist strittig. So lesen wir z. B. bei Nägeli, daß lebende Zellen sich nicht färben, oder wenigstens eventuell aufgenommenen Farbstoff chemisch umwandeln und unschädlich machen. Demnach müßte es sich bei der „Vitalfärbung" um Zustandsänderungen der Zellen handeln, die während ihres — wohl langsamer als bei den Trocknungsmethoden — eintretenden Absterbens auftreten und sich färberisch darstellen lassen, also um postvitale bezw. praemortale.

In diesem Sinne spricht sich z. B. Haidenhain aus. Er hält das sich färbende Eiweiß für nicht lebendes Material, sondern einen chemischen Körper (Eiweiß), der im schwach alkalischen Zellsaft gelöst durch den Hinzutritt eines basischen Anilinfarbstoffsalzes mit diesen reagiere. Dasselbe behauptet auch Pappenheim.

Wir haben aber auch Anhaltspunkte dafür, daß ganze Zellen oder größere Zellkörperkomplexe im lebenden funktionsfähigen Zustande diffus färbbar sind. Es geht das aus den Versuchen von Blochman und Bettendorf, Zernecke, Sander hervor, denen es gelang Muskelzellen von Plathelminthen vital zu färben, ebenso aus den Versuchen Bethes, M. Joseph, bei anderen Wirbellosen. Sehr interessant war in dieser Beziehung auch die Beobachtung Hertwigs und Fischels, daß sich mit methylenblaugefärbten Eier von Strongylocentrotus liv. bezw. Echinus

Mikrotobius in ungestörterweise bis zu Pluteusstadien entwickeln. Diese Tatsachen sprechen also dafür, daß eine vitale Färbung unter gewissen Umständen doch möglich ist.

Über das Zustandekommen der Vitalfärbung existieren drei Theorien — die Lipoidtheorie, die chemische und die Adsorptionstheorie.

Erstere wurde schon von P. Ehrlich zur Erklärung der vitalen Färbung der Nervenelemente eingeführt, später jedoch zugunsten der chemischen Theorie wieder aufgegeben. Das Prinzip der Lipoidfärbung wurde von Overton eingehend studiert, wobei dieser Forscher zu dem Ergebnisse kam, daß die Lipoide basische Anilinfarbstoffe aufzulösen vermögen, vorausgesetzt, daß sie kein Sulfosäurerest enthielten. Eine Ausnahme bilden nur Orange, Tropaolin 00 und 000. Diese lipoidlöslichen Farbstoffe sind es, welche für die Vitalfärbung in Betracht kommen, während von den Lipoiden in erster Linie an Lecithin und Cholestearin gedacht werden muß.

Mit diesen Substanzen soll nach Overtons Vorstellung die Grenzschicht des Protoplasmas jeder tierischen und pflanzlichen Zelle gewissermaßen imprägniert sein.

Auch die Erklärung der Narkose mit indifferenten Narcotici durch H. Mayer kann für die Theorie der Lipoid-Cholestearinwirkung als analoger Vorgang verwertet werden, denn auch hier spielt die Fettlöslichkeit bezw. Lipoidlöslichkeit des Narkotikums eine wesentliche Rolle, insofern als ihr die Stärke der Wirkung proportional geht.

Die Lipoidtheorie der Vitalfärbung fand allseitige Anerkennung, bis in die letzte Zeit; zu entkräften suchte sie nur Ruhland, demzufolge es manche Stoffe gebe, welche ihr widersprechen.

Auch als Begründer der Chemischen Theorie kann P. Ehrlich gelten. Die Färbung soll seiner Vorstellung nach dadurch erfolgen, daß bestimmte chemische Gruppen des „Biomoleküls", die „Chemoreceptoren", die Farbstoffmoleküle aufnehmen und fixieren.

Um die Adsorptionstheorie endlich hat sich besonders Bethe verdient gemacht. Nach ihm soll die Größe der Farbstoffad-

sorption vor allem von der Reaktion der Farbstofflösung abhängen. — OH Jonen, begünstigen die Adsorption basischer Stoffe, H die saurer. Die Färbung bezw. die vitale Speicherung hängt im wesentlichen von der Reaktion des Zellinneren ab.

Die Substanz, die durch die vitale Färbung sichtbar gemacht wird, besteht aus ganz kleinen Körnchen, die zum Teil fadenartig zusammenhängen und molekulare Brownsche Ortsbewegungen zeigen. Diese feinen Netze nehmen nur einen kleinen Teil von dem Zelleib der R. ein und haben verschiedene Form und Größe. Ihre Verteilung in den Zellen wechselt, manchmal befinden sie sich an der Peripherie, manchmal in der Mitte und täuschen so eine Art von Kern vor.

Außer diesen gewöhnlichen vitalen Substanzen gibt es noch eine andere, die nur in Form von einzelnen größeren zwei oder drei Kügelchen auftritt und sich durch ihr färberisches Verhalten, wie das zuerst von Rosin Bibergeil erwiesen und später von Cesaris Demel bestätigt wurde, unterscheidet.

Die S.r.f. färbt sich mit Methylenblau blau, mit Pyronin rot mit Methylviolett violett; Neutralrot, Naphtolblau und Toluidinblau färben dieselbe leicht metachromatisch, Toluidinblau und Naphtolblau dunkelbräunlich violett, Neutralrot bräunlich orange.

Eine andere Reihe von Farbstoffen geben uns die Möglichkeit, innerhalb der v.f.S. verschiedene Arten zu unterscheiden. Bei Anwendung von Brillantkresylblau, Azur, Nilblau erscheint die filamentöse Körnelung orthochromatischblau, zum Unterschied von einer besonderen metachromatischen Substanz, die leuchtend rot und zwar in Form eines singulären zentralen Tröpfchens zu erkennen ist.

Bei Phenylhydrazinvergiftungen treffen wir außer diesen Substanzen noch andere v.f. Körnchen, nämlich die sogen. Heinzschen Binnenkörper oder Blaukörnchen, in den R. Heinz hat ihre Vitalfärbbarkeit mit Methylviolett nachgewiesen. Sie sollen nach ihm durch Nekrose des Erythroplasma entstehen. Pappenheim zeigte, daß sie sich auch mit Eosin gut färben.

Diese Heinzschen Körner sind nur unter pathologischen Umständen zu finden und werden, wie Ehrlich zeigte, in zähtropfiger

Form ausgestoßen. Sie bilden dabei nicht den Blutplättchen gleichende Gebilde, sondern Hb-haltige Schizozyten, wie Pappenheim im Gegensatz zu Schwalbe-Soley meint.

Ehrlich hat die Vitalfärbung zur Erforschung des Nervengewebes angewandt, dann aber auch für das Blut. Das normale lebende rote Blutkörperchen erwies sich ihm als achromophil gegenüber Eosin, er fand aber bald, daß unter krankhaften Bedingungen manche Erythrozyten sich mit basischen Farbstoffen färben.

Im Jahre 1895 hat dann Pappenheim als Doktorant durch Anwendung von Neutralrot bei der embryonalen Maus vitalfärbbare braunrote Granula in den R. gefunden. Er fand auch, daß die v.f. Körnelung fixierbar und dann umfärbbar ist, ferner, daß sie isolierbar ist und Brownsche Molekularbewegung zeigt.

Ganz unabhängig von diesen beiden Forschern hat Hößley 1897 durch intravenöse Einspritzungen von Methylenblau bei Fischen, Amphibien, Vögeln und Säugetieren die S.r.f. festgestellt.

Außerdem wären noch von deutschen Forschern anzuführen besonders Israel, Weidenreich, v. Schilling, Torgau, Nägeli, Rosin-Bibergeil, welche erkannten, daß wir eigentlich zwei verschiedene v.f. Körnerungen unterscheiden müssen.

In Italien, wo die vitale Färbung viele Anhänger fand und auch noch heute geschätzt wird, haben Cesaris-Demel, Ferrata, Gigeto-Tos, Negri, Vassale, Poggi, Zoja sich besonders mit ihr beschäftigt.

Cesaris-Demel und Foa wiesen nach, daß auch in normalem menschlichen Blute v.f.R. vorhanden sind und ebenso im normalen Knochenmark. Der erste konnte auch die Angabe von Rosin und Bibergeil bestätigen, daß in den R. zwei verschiedene v.f.S. auftreten können — eine, welche mit Brillantkresylblau sich blau färbt und in Form von fadenartig-vereinigten Körnchen erscheint —, deshalb nannte er sie Substanzia reticulo-filamentosa — und eine andere in der Form von runden, metachromatisch rot-violett gefärbten Granulis — die sogen. metachromatische Substanz. Negri hat die v.f.S. in dauerkernigen R. festgestellt.

In Frankreich haben Chauffard und Fiessinger bei einem Falle von Ikterus haemolyticus congenitalis zahlreiche — bis 14‰ — v.f.R. nachgewiesen. Widal mit seinen Schülern konnte nachweisen, daß die v.f.R. nicht nur bei angeborenem hämol. Ikterus, sondern auch beim erworbenen reichlich, ja mitunter massenhaft (30—40‰), ferner bei primären und sekundären Anämien vorkommen.

In Rußland hat Maximow nachgewiesen, daß im embryonalen Blute die v.f.S. besonders vorhanden ist und mit dem Alter der Embryonen allmählich abnimmt.

Mit der Frage, ob die S.r.f. in den Zellen präformiert und auch in den ungefärbten Zellen zu sehen ist, haben sich Ferrata und Roseli beschäftigt. Sie kamen mittels Blutes von Embryonen und von erwachsenen Tieren, die teils mit Blei vergiftet, teils mit pyogenen Mikroorganismen vorbehandelt waren, zu dem Schlusse, daß die S.r.f. in ungefärbten R. nicht zu sehen ist, wohl aber die basophile Punktierung des fixierten Präparates.

Dasselbe hat später Hertz bestätigt.

Diese Tatsachen beweisen also, daß es sich bei der S.r.f. um eine Folge der Farbstoffeinwirkung handelt, also eigentlich um ein „Kunstprodukt“ und nicht um die Färbung einer präexistierenden Struktur.

Nach Overton ist die vitale S. eine starre physikalische Lösung, welche durch die Lipoidlöslichkeit der Farbstoffe bedingt ist. Als Substrat soll eigentlich die Oberflächenemulsion der Zellen gelten.

Die vitale Färbung soll dieser Theorie nach als eine Lipoidfärbung angesehen werden.

Man suchte aber diese Lipoidtheorie weiter durch die Gesetze der Adsorption zu vertiefen.

L. Michaelis zeigte, daß es sich bei der Färbung von Neutralfetten um physikalische Adsorption des Farbstoffchinons (Sudan) bezw. Chinonimids der indifferenten Monochinone und Chinonimidfarbstoffe handelt.

In der Zelle sind aber nicht nur Neutralfette, sondern auch eine Reihe von anderen Lipoiden, wie z. B. Cholesterinester, Seifen und Fettsäuren vorhanden.

Lorrain Smith hat gezeigt, daß Nilblau die Fettsäuren orthochromatisch, gewisse Neutralfette und Fettsäureester aber metachromatisch färbt.

Pappenheim, Hausen und Eisenberg meinen, daß es sich bei der metachromatischen Substanz wohl um eine Adsorption der befreiten roten Karbinolbase handelt.

Hiernach ist also die orthochromatisch f.S. als Fettsäure, die metachromatische als Neutralfett oder Fettsäureester anzusehen.

Ein Teil der Forscher hat dis S.r.f. für Kernreste erklärt wie z. B. Arigonie; viele haben sie mit der Polychromophilie identifiziert — Schilling, Torgau und Hertz — oder wenigstens in Zusammenhang gebracht (Sabrazés, Biondi, Rosin, Pappenheim, Ferrata, Luzzato). Andere wollten sie mit der basophilen Punktierung der fixierten Präparate identifizierten (Schilling-Torgau, Pappenheim-Hertz).

Es kann fast als bewiesen gelten, daß die Gr. filamentosa mit dem Kern genetisch nichts zu tun hat.

Welche Beziehungen hat die v.f.S. mit der Polychromasie?

In einem Experiment hat Rosin nachgewiesen, daß Zellen, die zuerst diffus polychromatophil gefärbt waren, später blaue Körnchen zeigten, wobei die Polychromatophilie verschwand. Daraus zog er den Schluß, daß die Polychromatophilie sehr häufig eine Vorbedingung dieser Granula sei, welche durch Zusammenziehung eines basophilen Körpers entstehen dürften.

Dabei müssen wir aber bemerken, daß es fraglich ist, ob die Polychromatophilie des fixierten Präparates und die des vitalgefärbten identisch sind, was auch von vielen wie z. B. Hertz in Abrede gestellt wird.

v. Schilling-Torgau hat bei Malaria-Anämie feine vitale Strukturen in den sonst polychromatisch erscheinende R. gesehen.

Vom Übergang zu Polychromasie berichtet auch Luzzatto.

Ferrata hat in einer Reihe von Experimenten zuerst vital gefärbt, nachher hat er an demselben Präparate die Fixation vorgenommen und dann Nachfärbung mit Jenner, so daß die verschiedenen Veränderungen im gleichen Präparate dargestellt waren. Dabei zeigten sowohl die orthochromatischen wie die

polychromatischen Roten die vitale Färbung und die basophile Punktierung ging nie parallel den vital. gr. R.

Pappenheim hat gefunden, daß die v.f.S. sich allenthalben parallel mit dem Auftreten der gewöhnlichen normalen Polychromophilie findet, so z. B. bei Sarkomratten und bei Hühnern nach Blutvergiftungen. Daher hat Pappenheim und Sabrazés und Biondi behauptet, daß die v.f.S. der vitalfärbbare Ausdruck der Polychromophilie des fixierten Präparates.

Da aber Pappenheim die Polychromophilie als mosaikartiges Nebeneinander basophiler und oxyphiler Substanz betrachtet, so identifiziert er diese mit der v.f.S. nicht. Letztere ist seiner Meinung nach nur der vitalfärbbare Ausdruck des spongioplasmatischen Substrat, der Plasmabasophilie.

Wie erwähnt haben Ferrata und Roseli nachgewiesen, daß die basophile Punktierung des fixierten Präparates präexistiert, was mit der S.r.f. nicht der Fall ist.

Ferrata, Pappenheim, Naegeli, Zoja u. a. behaupten, daß im normalen Blute der erwachsenen Tiere und Menschen die S.r.f. stets in 1—3 ‰ vorhanden ist. In fixierten Kontrollpräparaten fehlen aber die punktierten (Mejer, Speroni, Schmidt). Dasselbe soll auch für das normale Knochenmark gelten.

Ehrlich, Hertz, Lehur, Straus, Trautmann halten das Vorkommen von basophilpunktierten R im normalen Blute für sicher.

v. Schilling-Torgan meint, daß basophile Punktierung, S.r.f. und Polychromasie substanziell identische morphologische Modifikationen einer basischen Jugendsubstanz der Erythrozyten seien.

Nach Pappenheim und Askanazi sind basophile Punktierung und Polychromasie substanziell identisch, nicht aber die S.r.f.

Was die Schüffnersche Tüpfelung anbelangt, so behauptet v. Schiling-Torgau, da Maurer die von Schüffner geäußerte Meinung, daß es sich dabei um Parasiten oder deren Produkte handeln könnte, dadurch zurückwies, daß er durch sehr intensive Romanowskyfärbung ein ähnliches Stroma, eine

feine netzförmige Zeichnung bei allen Erythrozyten vor allem bei Tropikainjektion erzielen konnte und da also nicht die Substanz selbst, sondern allein die deutliche Sichtbarkeit für Malaria spezifisch ist, daß sie sozusagen eine Fortsetzung der Vitalstruktur, eine Sichtbarmachung ihrer Grundlage ist.

Ist nun die S.r.f. ein Ausdruck der Jugendlichkeit oder der Degeneration?

Hertz hat Serum von einem Kranken in dessen Blut v.f.R. vorhanden waren, mit normalem Blut, das fast keine v.f.R. enthielt, zusammengemischt, 15—60 Minuten stehen gelassen und dann vital gefärbt. Das Resultat war stets ein negatives.

Chauffard und Fiessinger haben Kaninchen mit Aalserum vergiftet. Wenn die Giftmenge so groß war (6 Tropfen), daß das Tier auf der Stelle zugrunde ging, haben sie kein v.f.R. in vitalgefärbten Blute auftreten sehen, dagegen sind bei denen, die am Leben blieben, v.f.R. in großer Menge nachgewiesen worden.

Cagnetto hat die Einwirkung von hämolytischen Seren auf die v.f.R. studiert. Beim Hunde genügte die Einspritzung von 0,1 ccm eines hämolytischen Serums zur Hervorrufung einer mäßigen „poussée“ v.f.R. nach 1 bis 3 Stunden ... Nach der zweiten oder dritten Injektion hämolytischen Serums war die Blutreaktion träger als nach der ersten, wahrscheinlich wegen Erschöpfung der erythropoetischen Funktion des Knochenmarkes. War die Hämolyse nach wiederholten Injektionen sehr weit vorgeschritten, so fand er eine sehr große Zahl v.f.R., deren mehrere die metachromatische Substanz zeigten.

Das Auftreten der S.r.f. in den R. ist also nicht an die unmittelbare Einwirkung des Giftes auf die Erythrozyten, sondern an eine solche auf die hämatopoetischen Apparate gebunden.

Die Autoren, die, wie z. B. Ehrlich behaupten, daß die S.r.f. degenerativer Natur sei, konnten dafür keine Beweise beibringen.

Sehr früh schon deuteten die italienischen Forscher diese S.r.f. für regenerativ, für einen Ausdruck der Jugendlichkeit. Das reichlichere Vorkommen bei menschlichen Embryonen (Maximow), bei jungen Tieren (Weidenreich, Takagi), die

allmähliche Abnahme mit der Reifung der Tiere, das Vorhandensein im normalen menschlichen Blute (Cesaris Demel u. a.), die Vermehrung bei traumatischen Anämien, das Vorkommen derselben Substanz im Knochenmark des Erwachsenen (Cesaris, Demel, Foa', Ferrata, Nägeli) sprechen für die regenerative Natur der S.r.f.

Luzzatto meint, daß wir nicht bestimmt wissen, ob die v.f.R. embryonale, zu Zerstörung verurteilte Elemente oder junge unreife zur Reifung prädisponierte Zellen sind. Seiner Meinung nach steigt im Alter die Blutregeneration und dementsprechend die Zahl der v.f.R.

Poggis hat nachgewiesen, daß die Zahl der Roten und die der v.f.R. im umgekehrten Verhältnis zueinander stehen — die Zahl der v.f. nimmt allmählich um so mehr ab, je mehr die Gesamtzahl der Roten ansteigt.

Es ist selbstverständlich vom biologischen und klinischen Standpunkte aus nicht nur interessant, sondern auch sehr wichtig, zu wissen, in welcher Menge — relative und absolute — v.f.R. im Blute vorkommen, weil ihr Auftreten nach Naegeli das sicherste und früheste Zeichen einer reaktiven Überfunktion des Knochenmarkes sein soll.

Die Zahlen der v.f.R., die man bei den verschiedenen normalen Individuen gefunden hat, variieren sehr. So geben Fiessinger und Abrami Werte bis 30‰ öfters 3,5—5‰, Hertz 6—20‰ an.

Luzzatto hat in 70,5% der Fälle Werte unter 2‰ gefunden. Bei Kaninchen hat er sehr große Schwankungen von 0,9—16‰ festgestellt, im Blute erwachsener Ochsen, Schafen und Pferden fand er überhaupt keine v.f.R.

Was die Anämien und Krankheiten anbetrifft, so sind die verschiedenen Angaben verhältnismäßig spärlich und ebenso nicht übereinstimmend. So z. B. haben Fiessinger und Abrami bei den anämischen Zuständen der Tbc. keine v.f.R. wahrgenommen. Beretti dagegen hat eine Vermehrung gefunden. Nach Luzzatto entspricht bei der Tbc. die Vermehrung der v.f.R. nicht der Intensität der Anämie, es handelt sich seiner

Meinung nach „um eine absolute oder relative sogen. aplastische Anämie". Poggi behauptet, eine Zunahme der S.r.f. bei der Chlorose gefunden zu haben, im Gegensatz zu Fiessinger, Abrami, Hertz. Bei der myeloischen Leukämie fanden Hertz, Cade und Chalier keine Vermehrung, im Gegensatz zu Pappenheim und Beretti und vielleicht Fiessinger, Abrami. Bei der lymphatischen Leukämie haben Cade und Chalier eine Zunahme nachgewiesen. Luzzatto fast keine.

Kann man schließlich die Vermehrung der S.r.f. als prognostisches Zeichen auffassen?

Darüber sagt Luzzatto; „Die Vermehrung der v.f.R. beweist nur, daß das Knochenmark reagiert, ist aber kein prognostisches Zeichen, weil in vielen Fällen, wo sie vorhanden war, die Prognose doch ungünstig war."

Es ist außerdem nicht der Grad der Anämie das wichtigste oder, besser gesagt, das entscheidendste für die Vermehrung der S.r.f., weil in vielen Fällen die Zahl der v.f. dem Grade der Anämie nicht parallel geht.

Cesaris Demel hat eine Einteilung der Anämien nach dem Verhalten der v.f.R. versucht. Er unterscheidet vier Typen.

I. Typus: Geringe und wiederholte Blutverluste oder toxische schwach hämolytische Einflüsse, infolgedessen gesteigerter Bildung von R.; im Blute vermehrte Menge v.f.R. mit den Substanzen a und b.

II. Typus: Bedeutende Blutverluste oder toxische Momente, welche eine intensivere und stärkere hämolytische Wirkung auf die zirkulierenden R. ausüben. Folglich intensive Tätigkeit der blutbildenden Organe, Vermehrung der v.f.R. mit Zunahme der metachromatischen Substanz (embryonale Umwandlung des Knochenmarkes), dabei Normoblasten im Blute.

III. Typus: Gleichzeitiger Einfluß von Blutverlusten und hämolytischer Wirkung oder plötzlich intensive hämolytische, toxische Wirkung mit Angriff auf die hämatopoetischen Organe. Sehr deutliche metachromatische Substanz in Form von zahlreichen kleinen Tröpfchen oder größeren Tropfen; daneben Mikrozyten, Megalozyten, Poikilozyten. Das Knochenmark ist

zum embryonalen Zustand zurückgekehrt — perniciöse, progressive Anämie.

IV. Typus: Die Anämie ist bedingt durch toxische Momente, welche auf die zirkulierenden R. eine intensive hämolytische Wirkung ausüben, aber spezifisch vielleicht so intensiv auf die blutbildenden Organe einwirken, daß diese in ihrer funktionellen Reaktion gehindert werden — mangelnder Ersatz —. Bei diesen schweren Anämien sind weder Erythroblasten noch v.f.R. im Blute nachweisbar.

Nach dem Verhalten der ausgeschiedenen Bilinogenmengen und des mikroskopischen Bildes unterscheidet Zoja zwei Klassen.

I. Klasse: Zahlreiche v.f.R., aber keine Parachromatinreste (basophile Punktierung) oder Chromatinreste (Jollys und Cabots Körper) enthaltenden R., keine Normoblasten. Sehr zahlreich sind hier die zerstörte und neugebildete R.

II. Klasse: Diese Anämien können sehr schwer sein, aber die ausgeschiedene Bilinogenmenge erreicht nie die Größe derselben in der ersten Klasse. Hier sind v.f.R. wohl zu sehen, vor allem aber erscheinen basophilpunktierte R., Normoblasten, zuweilen Megaloblasten. Hier gehören die Bleianämie, perniciöse Anämie, Leukämie, Pseudoleukämie usw.

Die Übersicht über die bisherigen Ergebnisse der Erforschung der v.f.S. beweist wohl, daß noch große Unstimmigkeit über die Bedeutung derselben in jeder Hinsicht herrscht. Sehr viel scheinen daran die angewandten Methoden der Färbung schuld zu sein; jede derselben scheint einfach zu beherrschen zu sein, erfordert aber, um zu brauchbaren Resultaten zu gelangen, doch eine gewisse Vertrautheit und Übung.

Pappenheim hat das Neutralrot als erster angewandt und zwar in der Weise, daß er eine minimale Spur trockenen Neutralrotes auf den Objektträger brachte und das mit Blut beschickte Deckgläschen darüber legte. Später erwärmte er über einer Bunsenflamme leicht die gereinigten Objektträger, breitete mit einem Glasstabe Tropfen alkoholischer Farbstofflösung auf diesen aus und brachte den Alkohol zum Verdunsten. Dann brachte er ein Blutröpfchen auf den Objektträger und bedeckte mit einem Deckgläschen.

Das Methylenblau empfahl als erster Hörsley 1897.

Sabrazés hat auch Methylenblau angewandt — lufttrockene Blutausstriche auf entfetteten Objektträger (oder Deckgläschen), Färbung beliebig später — auf das entfettete Deckgläschen ein kleiner Tropfen von Methylenblau medit. pur. in Aqua dest. 1 : 500 und damit bedeckt.

Widal, Brulé, Abramis benutzen eine isotonische Farbstofflösung:

10 ccm polychrom. Methylenblau v. Unna
10 ccm 8proz. NaCl
1 ccm 2proz. Na oxulat.

In eine Pipette wird zuerst Blut und dann das Zehnfache der Lösung gesaugt, gut gemischt, 10 bis 15 Minuten stehen gelassen, dann zentrifugiert. Später wird das Sediment auf einen Objektträger ausgestrichen und durch Hitze fixiert.

Ferrata und Roseli behaupten, daß auf diese Weise die Substansias f. elektiv gefärbt wird.

Pappenheim empfahl weiters, hauptsächlich gewisse Amido- und Ammoniumfarbstoffe, wie Hexamethylviolett, Pyronin, Toluwinblau und fand, daß bei Gemischen zweier Farbstoffe z. B. Neutralrot und Methylenblau beide Farbstoffe sich gegenseitig hemmen.

Ehrlich führte noch die Oxonine ein. Von diesen hat sich besonders das Brillantkresylblau bewährt. Das Brillantkresylblau wurde dann auch von Rosin-Bibergeil, Cesaris-Demel und Aynaud verwendet.

Cesaris-Demel verwendet:

Brillantkresylblau	0,02
Sudan III	0,04
Alkohol abs.	15%.

Ferrata und Roseli haben zur präagonalen Färbung 1% Methylenblau in 0,85 NaCl-Lösung vorgeschlagen, dann wird fixiert und nach Jenner-Giemsa gefärbt. So sollen alle Veränderungen der Roten zum Ausdruck gebracht werden.

v. Schilling-Torgau hält diese Methode für sehr geeignet. Er bestreicht zuerst die gereinigten Objektträger mit alkoholischer

Lösung von Brillantkresylblau, dann nach dem Austrocknen streicht er mit Deckglas das Blut aus, fixiert in Äther-Alkohol oder Methylalkohol nur 5' und färbt mit alkalischer Giemsalösung 20' nach.

Die Methoden mit denen ich gearbeitet habe sind:

1. Die von Sabrazés.

Sie ist aber gewissermaßen von mir modifiziert worden. Der Farbstoff wird auf den entfetteten Objektträger gebracht, dann wird dieser sehr stark erwärmt und nach links und rechts geneigt, so daß der Farbstoff gleichmäßig verteilt antrocknet. Das Glas muß dabei eine himmelblaue Farbnüance bekommen, was die gewünschte Dicke der Farbstoffschicht anzeigt. Dann wird ein Tropfen Blut auf ein Deckgläschen gebracht, dieses auf den Objektträger gelegt und mit Vaselin umrandet. Nach 10—15 Minuten nimmt man die Untersuchung vor. Die Farbstofflösung muß frisch vorbereitet sein und jedesmal filtriert werden. Wenn sie verunreinigt oder veraltet ist, so kann man keine gleichmäßige Verteilung erzielen und außerdem werden die vitalen Substanzen nicht oder fast nicht gefärbt, so daß man falsche Resultate erhält.

2. Die von Cesaris-Demel.

Die Farbstofflösung wird auf den Objektträger gebracht und durch Bewegung desselben gleichmäßig verteilt. Der Alkohol verdunstet dabei. Der Objektträger muß eine gleichmäßig schwachrötliche Färbung zeigen. Weiter verfährt man in derselben Weise wie oben, aber man muß längere Zeit — mehr als eine halbe Stunde abwarten bis die Färbung der S.r.f. erfolgt ist.

3. Die von Widal, Abramis, Brulé.

Im Anfang meiner Versuche konnte ich nicht recht gut unterscheiden, ob es sich bei den „vitalgefärbten Substanzen" der Roten nicht um Farbstoffniederschläge handelt, da ich oft und oft sah, daß Basophie der vitalfarbbaren Substanzen gleichende Körnchen etc. (Farbstoffniederschläge) auch außerhalb der Zellen lagen. Es hatte sich mir die Frage aufgedrängt, ob

man dies nicht durch Bewegung der R. entscheiden könnte. Durch leichten Druck auf das Deckglas läßt sich eine Bewegung der Blutkörperchen bekanntlich erzielen. Der Nachweis, ob man es mit Farbstoffniederschlägen oder wirklicher Färbung zu tun hatte, gelang auf diese Weise sehr gut. Seit der Zeit lernte ich auch ohne diese Maßnahme zu unterscheiden ich sah es ohne weiters, ob es sich wirklich um die vitalfärbbare Substanz handelte, oder ob ein Farbstoffpartikelchen außerhalb oder innerhalb eines Blutkörperchens lag.

Das Aussehen der S.r.f. ist je nach der angewandten Methode etwas verschieden. Wird z. B. ein und dasselbe Blut nach den drei angegebenen Methoden gefärbt, so sieht man:

1. Bei Methylenblau-Färbung ist die Substanz sehr deutlich, plump und zeigt sehr scharf einzelne Fädchen — von Granulis kann man fast nicht reden.
2. Bei Brillantkresylblau-Färbung ist die S. r. f. sehr deutlich, aber schlanker, dünner und man kann die einzelnen Fädchen nicht mehr unterscheiden. Alles ist mehr gleichmäßig und netzartig.
3. Bei Widal-Abramis Methode erscheint sie noch feiner und ganz leicht metachromatisch gefärbt.

Man kann entweder annehmen, daß in den drei Fällen nicht dasselbe gefärbt wird oder daß es sich bei den beiden letzten Methoden um eine Zusammenziehung der Substanz handelt. Es ist sehr wohl möglich, daß die S. r. f. nicht ganz einheitlicher Natur ist. Ich persönlich bin der Ansicht, daß die S. r. f. nicht einheitlicher Natur ist, weil es fast undenkbar ist, daß bei der wahrscheinlichen Isotonie der Lösungen Schrumpfungs- oder Quellungsvorgänge eintreten.

Die vitalgefärbten R. sind blasser als die anderen, was wahrscheinlich damit zusammenhängt, daß sie hämoglobinärmer sind. Andererseits sind aber die v. f. R. größer und spezifisch leichter, sie finden sich hauptsächlich in der Nähe des Randes des Deckgläschens. So z. B. habe ich bei einem Falle von Malaria in den einzelnen Gesichtsfeldern von der Mitte gegen den Rand folgende Zahlen festgestellt:

	n. R.	v. f. R.
Mitte	42	—
. . . . .	50	1
. . . . .	53	—
. . . . .	41	2
. . . . .	115	1
. . . . .	165	1
. . . . .	100	—
. . . . .	110	1
. . . . .	107	1
. . . . .	112	2
. . . . .	120	3
. . . . .	90	2
. . . . .	67	2
. . . . .	118	4
Rand	142	4

Was die Unterschiede in der Färbezeit bei der Färbung mit verschiedenen Farbstoffen anbelangt, so ist dafür sicher die verschiedene Löslichkeit der Farbstoffe in Lipoiden, sowie der Größe ihrer Molekülen von Bedeutung.

Auch Unterschiede in der Resistenzfähigkeit der v. f. Zellen sind bei den verschiedenen Methoden nachzuweisen. So z. B. wird ein mit Methylenblau gefärbtes Präparat einige Tage hindurch von Zeit zu Zeit beobachtet, so sieht man allmählich die Zahl der vorhandenen Erythrozyten kleiner werden. Die Gesamtzahl ist vermindert, aber die der v. f. R. ist dieselbe geblieben, so daß schließlich eine Zeit kommt, wo im Präparate nur noch diese zu sehen sind. Es ist also klar, daß bei dieser Färbung die Resistenzfähigkeit der Roten mit S. r. f. größer als die der normalen R. ist.

Bei Anwendung von Brillantkresylblau haben wir umgekehrte Verhältnisse.

Was die Resistenzfähigkeit der nichtvitalgefärbten R. an sich betrifft, so ist sie in beiden Fällen fast gleich; bei Brillantkresylblau-Färbung der Zeitunterschied ihrer Auflösung ist nur um ein geringes kleiner als bei Methylenblau.

Wir müssen also annehmen, daß bei der Färbung mit dem letzteren die Zellen etwas weniger geschädigt werden. Es ist sehr wohl möglich, daß durch Eindringen des Farbstoffes die Zellmembran gelockert wird. Ich habe oft bemerkt, daß die Farbstoffpartikelchen, die im Zellprotoplasma sichtbar werden, eine eigentümliche Zitterbewegung zeigen und bei der Färbung nach Cesaris-Demel viel größer sind, was als Beweis dafür gelten kann, daß der Protoplasmarand oder die Zellmembran stärker gelockert wird.

Nachdem alle R. — die v. g. genau so wie die nichtgefärbten — verschwunden waren, war schließlich nur die S. r. f. freiliegend im Präparate zu sehen, ganz gleichgültig, was für eine Färbung angewandt wurde. Die S. r. f. löst sich also nicht auf, sie besitzt eine sehr hohe Resistenz.

Ich konnte noch eine merkwürdige Beobachtung machen, nämlich die, daß in manchen Fällen, wo alle normalen R. still standen, die v. f. R. sich in einer Bewegung befanden, sie tanzten.

Weiter konnte ich feststellen, daß je stärker die Regeneration war, um so mehr Platz die S. r. f. in den einzelnen R. einnahm, so daß z. B. bei der perniziösen Anämie ein Typus des „fastausgefüllten" vorherrscht, ebenso bei Malaria. In diesen Fällen durfte es sich wohl um ein zu verfrühtes Erscheinen unreifer R. in der Blutbahn handeln, eine Erscheinung, die durch die erhöhten Ansprüche an das Knochenmark zustandekommen könnte.

Sehr merkwürdig ist die sogenannte Polychromasie des v. g. Präparates. Sie besteht darin, daß z. B. bei der Methilenblaufärbung ein Teil der normalen R genau so, wie die v. G. R. eine blaue Farbe annehmen. Hie und da kann man erkennen, daß in der Nähe solcher Zellen sich eine größeren Quantität Farbstoff befindet. Das ist besonders am Rande der Fall. Andererseits müssen wir aber bedenken, daß am Rande die spezifisch leichteren Elemente sich ansammeln. Nicht destoweniger scheint es sicher zu sein, daß je mehr Farbstoff angeboten wird und je längere Zeit die Zellen seiner Wirkung ausgesetzt werden, desto leichter, rascher und intensiver der Farbstoff aufgenommen wird. In einem Falle von Diabetes mellitus konnte ich aber feststellen,

daß schon einige Minuten nach der Farbstoffwirkung fast alle Zellen mit S.r.f. und viele normale die Erscheinung der Polychromasie zeigten.

Ich gestatte mir nebenbei einige Worte über das färberische Verhalten der weißen Blutskörperchen zu sagen.

Werden diese Zellen der Farbstoffwirkung ausgesetzt, so sieht man zuerst im Protoplasmaleib eine Reihe von tanzenden Farbstoffpartikelchen erscheinen. Dann färben sich allmählich die Granula. Und erst später nimmt das Protoplasma eine gleichmäßige Farbe an. Ich muß bemerken, daß die Granula von allen weißen auch die der eosinophilen sich färben. Es ist sehr möglich, daß bei den eosinophilen Granulis nur eine lipoide Hülle desselben sich färbt, oder aber, daß in diesen Granulis noch irgendeine Komponente existiert, die durch die Fixierung verloren geht. Die Mastzellgranula werden metachromatisch gefärbt. Nachdem die Granula sich gefärbt haben und das Protoplasma eine gleichmäßige Nuance angenommen hat, dann erst beginnt der Kern langsam den Farbstoff aufzunehmen. Gewöhnlich färbt sich der Kern dunkler als das Protoplasma, nur bei den Mastzellen ist er ganz schwach gefärbt. Das Gesagte gilt für die Methylenblau-Färbung, zum Teil auch für die anderen. Die Färbung nach Cesaris-Demel zeigt gewisse Besonderheiten, die wir kurz hervorheben wollen.

Bei dieser Färbung werden die weißen Blutkörperchen genau so wie die R. langsamer gefärbt, als bei der Methylenblau-Färbung. Besonders auffallend ist das Verhalten der Lymphozyten.

Lange nachdem schon alle anderen weißen Blutzellen den Farbstoff aufgenommen haben, erscheinen die Lymphozyten noch ungefärbt, im Stadium der tanzenden Farbstoffpartikelchen, als weiße Flecken auf rötlichem (von Sudan III) Grunde.

Erst sehr spät, nach Stunden fangen sie an sich zu färben.

Wie kann man das alles erklären?

Vielleicht sind sie resistenzfähiger? Vielleicht besitzt ihre Hülle bestimmte Eigenschaften, einen anderen Lipoidbau, der dem Färbstoffeindringen entgegenwirkt?

Mit der Brillantkresylblaufärbung kann man innerhalb der neutrophilen Leukozyten bestimmte Unterschiede finden.

So wird z.B. der Kern bei einem Teil derselben sehr schnell und sehr stark gefärbt; bei einem anderen Teil erfolgt die Färbung langsamer, aber in beiden Fällen ist der Kern immer dunkler als das Protoplasma.

Bei einem dritten Teil dagegen bleibt der Kern längere Zeit ungefärbt und fast immer schwächer tingirt im Vergleich mit dem Protoplasma.

Das Protoplasma dieser Zellen ist im allgemeinen sehr schwach gefärbt aber etwas grober granuliert. Ich habe die Beobachtung gemacht, daß der Teil des Protoplasmas, der bei den Leukozyten an den Kern grenzt, dunkler gefärbt ist und eine ausgesprochene Granulierung besitzt, so daß der Kern in einem eigentümlichen Sack — bei Brillantkresylblaufärbung rötlich — zu liegen scheint. Dieser Sack hat auch bei den verschiedensten Formen des Kernes immer eine runde Form.

Nicht nur bei den Mastzellen, sondern auch bei einzelnen neutrophilen Leukozyten findet man metachromatisch färbbare Granulationen im Protoplasma.

Hie und da findet man innerhalb der Lymphozyten dunkler färbbare Partien. Diese Erscheinung ist aber nicht an bestimmte Krankheiten gebunden, sondern man findet sie bei ganz verschiedenen Zuständen, die gar nichts miteinander zu tun haben.

Es ist sehr wohl möglich, daß das von unvollständiger Differenzierung herrührt.

Die Farbresistenz der weißen Blutkörperchen ist geringer als die der roten. Sie gehen, wenn ein Präparat stehen gelassen wird, früher zugrunde — Lymphozyten nach den Polynukleären.

Wenden wir nun unsere Aufmerksamkeit auf das prozentuale Verhalten der Roten mit S.r.f. bei dem Gesunden und bei den einzelner Krankheiten.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V. g.	Bemerkungen
1	Mann	19	90	0,8	
2	„	21	95	$1^1/_2$	
3	„	22	88	2	

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V. g.	Bemerkungen
4	Mann	26	90	1	
5	„	28	95	0,5	
6	„	33	90	0,6	
7	„	47	95	0,5	
8	„	49	100	0,2	
9	„	55	90	1	
10	„	65	85	3	
11	Fräulein	18	90	0,5	
12	„	19	85	$1^1/_2$	
13	Frau	21	90	2	
14	„	30	95	1	
15	„	40	85	0,4	
16	„	46	90	0,2	
17	„	57	90	1,8	
18	Neugeborener	1 Stunde	—	55	

Aus vorstehender Tabelle geht zunächst hervor, daß die v.f.R. auch im normalen Blute stets zu finden sind, allerdings nur in kleiner Zahl, 0,2—3‰. Eine wesentlich höhere Zahl wies das Blut des Neugeborenen auf mit 55‰.

Aus meinen Untersuchungen berechnet sich für das 20.—50. Lebensjahr genau ein Verhältnis für die v.f.R. zu den n.R. von 1 pro Mille.

Nach dem 50. Lebensjahr sehen wir wieder eine Erhöhung der Zahl der v.f.R. Pasinetti nimmt an, daß in den späteren Lebensjahren das Knochenmark wieder aktiver wird.

Das konstante Vorkommen v.f.R. beim Normalen beweist, daß es nicht von Zufälligkeiten abhängt, sondern etwas Physiologisches darstellt.

Wenn wir in Betracht ziehen, daß die v.f.R. regelmäßig im Knochenmark — der Bildungsstätte der Blutzellen — vorhanden sind, daß bei größeren Blutverlusten, wenn also die Funktion der hämatopoetischen Organe verstärkt wird, ihre Zahl nach dem Pogischen Gesetze parallel derselben oder, anders ausgedrückt, parallel dem Hämoglobinverluste steigt, weil das Knochenmark eine größere Anzahl von v.g.R. produziert, so ist es mehr

als klar, daß solche Zellen, wenn auch in entsprechend geringer Zahl, einen normalen Bestandteil des Blutes bilden müssen. Ihr vermehrtes Auftreten unter dem Einflusse erhöhter Knochenmarkstätigkeit spricht in dem Sinne, daß es sich um junge, nicht ganz fertige Elemente handelt.

Also man muß annehmen, daß das Stadium der Vitalfärbbarkeit von allen Roten durchgemacht werden muß und zwar nicht nur im Knochenmark, sondern vielleicht noch auch in der Blutbahn.

Ich glaube, daß man annehmen darf, daß alle jungen R. kurz nachdem sie das Knochenmark verlassen haben, noch v.f.S. enthalten, welche erst mit zunehmender Reifung verschwindet.

Vielleicht dürfen wir auch annehmen, daß die verschiedenen Bilder der S.r.f. verschiedenen alten Reifungsstadien entsprechen.

Ich habe auch eine Reihe von jungen Ratten untersucht. Hier habe ich auch eine sehr starke Vermehrung der S.r.f. festgestellt.

Die R. sind bei der Ratte etwa um ein Drittel kleiner als die des Menschen.

Die v.g.R. sind blasser und größer wie übrigens.

Die S.r.f. hat dieselbe Beschaffenheit wie beim Menschen, aber die Erythrozyten sind von ihr stärker ausgefüllt.

Die Färbung mit Brillantkresylblau erfolgt langsamer als die Methylenblau-Färbung.

Die Farbresistenzfähigkeit der R. der Ratten ist im Vergleich mit der des Menschen eine geringere.

Die v.g.R. verschwinden auch aus dem Rattenblute bei Methylenblau-Färbung später als die normalen; bei Brillantkresylblau-Färbung liegen die Verhältnisse umgekehrt.

Die Rattenerythrozyten gehen bei einer und derselben Färbung früher zugrunde als die menschlichen.

Man trifft bei den Ratten auch die Erscheinung der Polychromasie des vitalg. Präparates. Sie ist bei den verschiedenen Individuen verschieden stark ausgebildet.

Ratten.

Nr.	Alter	V. g. R. ‰	Mittelzahlen
1	3 Wochen	60	52,5
2	— „ —	45	
1a	4 Wochen	50	52,5
2a	— „ —	45	
3	5 Wochen	27	
4	— „ —	40	
5	— „ —	40	
6	— „ —	45	
7	— „ —	64	
8	— „ —	50	
9	— „ —	25	42,8
10	— „ —	20	
11	— „ —	21	
12	— „ —	60	
13	— „ —	88	
14	— „ —	120	
15	— „ —	26	
16	— „ —	74	

Man sieht aus der obigen Tabelle, daß bei den Ratten sehr starke individuelle Schwankungen vorhanden sind.

Im allgemeinen erscheint mit zunehmendem Alter eine langsame Abnahme der v.f.R.

So zeigten die von mir untersuchten Ratten später eine Abnahme der v.f.R. in der VI. Woche auf 15—18 ‰, in der VIII. Woche eine solche von 4—8 ‰.

Ulcus ventriculi et duodeni.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb. %	V. g. ‰	
1	Fräulein	22	90	5½	Ulcus ventriculi
1a	Mann	49	100	4	Ulcus ventriculi
2	„	54	85	3½	Ulcus duodeni
3	„	48	80	5	Ulcus ventriculi
4	„	26	75	6	Ulcus duodeni
5	„	42	75	4	Ulcus ventriculi
6	„	50	95	0,5	Periduodenitis auf Grund eines alten Ulcus duodeni.

In allen Fällen mit Ausnahme des sechsten haben wir also eine leichte Erhöhung der Zahl der v.f.R. gefunden. Dieser Fall 6 betraf aber einen geheilten Ulcus.

Wie Boas zuerst nachgewiesen hat, findet man sehr oft beim Ulcus im anscheinend normal aussehenden Stuhl Blut. Es bestehen öftere kleinere Blutungen, die zu einer stärkeren Reaktion des hämatopoetischen Apparates und dadurch zu einer Vermehrung der v.f.R. führen.

Gastritis.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb	V. g. ‰	
1	Fräulein	15	85	0,5	Gastritis
2	Mann	25	80	0,2	—
3	Frau	38	85	0,2	Nervöse Magenbeschwerden. Obstip. atonica, Hypacidität.

Bei der Gastritis fand sich zum Unterschied vom Ulcus keine Vermehrung der v.f.R.

In einem Falle von Oxyuriasis konnten wir dagegen eine Vermehrung der v.f.S. feststellen.

Frau 31 80% Hb 3‰ v.g.

Es ist zu vermuten, daß hier auf irgendeine Weise eine Reizung des hämatopoetischen Apparates zustande kommt. Und das ist sehr möglich, weil die Darmparasiten sehr oft mit einer Anämie einhergehen. Ist aber diese Anämie eine Folge der Unterernährung oder eine solche der direkten Einwirkung von Giften auf den hämatopoetischen Apparat?

Wahrscheinlich kommen knochenmarksreizende Gifte in Betracht, oder solche, die die R. direkt schädigen und sekundär vermehrte Regeneration bewirken.

Ikterus catarrhalis.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb	V. g. ‰	
1	Mann	19	95	0,1	Beginnender schwacher Ikterus
2	„	57	85	2½	Schwacher Ikterus
3	„	61	95	2½	Schwacher Ikterus
4	„	25	90	10	Hochgradiger Ikterus im Ausgangsstadium.

Ein im Anfang der Erkrankung stehender Patient hat also keine Vermehrung der vitalfärbbaren Substanz, zwei vorgeschrittene Fälle einen Wert von 2½ ‰ und ein zwar eben in das Stadium der Besserung eingetretener aber noch hochgradig Ikterischer 10 ‰.

Vermehrtes Zugrundegehen von R.? Wir kennen aus der Physiologie die zerstörende Wirkung der Gallensäuren.

Frau 63 Jahre 75 % Hb 9 ‰ v.g.R. Lebercirrhose mit Ikterus.

In diesem Falle haben wir nicht nur eine Vermehrung der Substantia granulofilamentosa, sondern das Vorhandensein von metachromatischer Substanz nachgewiesen.

Wir müßen vielleicht eine stärkere Schädigung des Knochenmarkes annehmen.

Nervenkrankheiten.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb	V. g. ‰	
1	Frau	42	90	4½	Neurastenie, Colospasmen
2	„	22	80	2½	Migräne
3	Mann	16	72	2	Genuine Epilepsie
4	Mädchen	16	80	9	Enuresis nocturna

Bei den Nervenkrankheiten findet man eine leichte Erhöhung der S.r.f. Nur in dem Falle von Enuresis nocturna haben wir eine stärkere Vermehrung nachgewiesen.

Innersekretorische Störungen.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb	V. g. ‰	
1	Mädchen	21	75	12	Myxödem
2	Bursch	14	70	0,1	Infantilismus
3	Frau	53	85	7½	Morbus Basedowii
4	„	63	80	1½	„ „ in Heilung
5	„	38	80	0,2	„ „ „ „
6	„	56	75	0,4	„ „ „ „
7	„	30	70	0,1	Hyperthyreoidismus

Bei dem normalen Menschen sehen wir oft, daß mit der längeren Einwirkung des Farbstoffes die Zahl der polychromatischen R. zunimmt, was sicher mit einer gewissen Schädigung derselben in Zusammenhang steht.

Carcinom.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb	V. g. %	
1	Mann	65	95	$1^1/_2$	Ca. ventriculi
2	„	59	85	0,2	Ca. d. Ductus choledochus
3	Frau	60	85	1	Pleuritis carcinomatosa
4	„	70	65	$1^1/_2$	Ca. ventriculi
5	„	53	65	5	Cardia Ca.
6	Mann	63	65	$6^1/_2$	Ca. ventriculi

Die Zahl der v.g.R. bewegt sich hier ungefähr parallel dem Hämoglobingehalte. Je mehr die zerstörende Wirkung des Carcinomgiftes, um so mehr steigt auch die Zahl der jungen, der v.f.R., die als Ersatz für die zugrunde gehenden betrachtet werden dürfen — wenigstens für mich persönlich gilt das als eine feste Tatsache.

Andere Tumoren.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb	V. g. %	
1	Frau	61	70	8	Parotis-Tumor
2	Fräulein	22	75	2	Lymphogranulom
3	Mann	47	80	4	Gehirntumor
4	Mädchen	16	85	4	Tuberculoid
5	Mann	31	95	9	Sarkom
6	Frau	64	60	0,3	Lebertumor-Pleuritis

Alle Tumoren rufen eine Vermehrung der v.f.R. hervor, wohl durch Knochenmarksreizung. Zu späteren Stadien mag dann auch die entstehende sekundäre Anämie — infolge stärkeren Blutzerfalls beteiligt sein.

Die Zahlen bei Myxödem und Infantilismus sind ganz verschieden — bei Myxödem ist eine Vermehrung der v.g.R. bei dem Infantilismus umgekehrt eine Verminderung derselben vorhanden.

Im Anfangsstadium des Morbus Basedowii (dazu können wir mit einiger Einschränkung auch die Fälle von Hyperthyreoidismus rechnen) haben wir eine Verminderung der v.g.R. nachgewiesen. Wenn die Krankheit in voller Entwicklung ist (Fall 3) ist eine Vermehrung vorhanden, die bei der Heilung zurückgeht.

Wenn wir die Fälle von Morbus Basedowii mit dem Myxödem vergleichen, so sehen wir, daß zwar in beiden Fällen eine Vermehrung der v.f.R. bestand, beim Myxödem jedoch doppelt so stark wie beim Basedowii. Bei beiden Zuständen scheint demnach ein erhöhter Reiz auf das Knochenmark ausgeübt zu werden, vielleicht ein toxischer. Vielleicht spielt wenigstens beim Basedow auch die Stoffwechselsteigerung, an der wohl auch das Blut beteiligt wird, dabei eine Rolle.

Diabetes mellitus.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb	V. g. ‰	
1	Mädchen	14	75	3	
2	Frau	39	80	7	
3	Bursch	20	90	9	Mit Acetonurie $6^1/_2$ % Zucker
4	Frau	61	85	2	
5	„	63	100	4	
6	Mann	62	80	1	Zuckerfrei
7	„	74	85	2	„
8	„	75	70	4	„ Ischias

Beim Diabetes mellitus ist immer eine Vermehrung der v.g.R. nachzuweisen. Auch nachdem der Zucker infolge diätetischer Behandlung verschwunden war, haben wir fast immer noch eine Vermehrung feststellen können.

Die Zahl der v.g.R. schien der Schwere der Erkrankung parallel zu gehen.

Besonders interessant war Fall 3, da kurz nach der Färbung fast alle vitalfärbbaren Zellen (siehe meine Zeichnungen Tafel Nr. 3 Figur X) Polychromasie zeigten. Eine Tatsache, die mög-

licherweise durch eine Schädigung der Blutkörperchen in der Blutbahn hervorgerufen war.

Malaria.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V.g.‰	
1	Mann	24	80	20	Vor 10 Tagen Schüttelfrost
2	„	40	85	5	Postmalarischer Zustand
3	„	57	65	0,1	Postmalarischer Zustand

Bei dem frischen Malariafall habe ich eine sehr beträchtliche Vermehrung V.g. nachgewiesen.

Nach jahrelangem Ablauf der Malaria fand ich keine oder wenigstens keine so beträchtlichen Zahlen mehr.

Nierenkrankheiten.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V.g.‰	
1	Mann	62	80	3	Nephrocirrhose
2	„	30	95	0,5	Nephritis
3	„	31	85	3	„

Die Nierenkrankheiten weisen also keine oder fast keine Vermehrung der v.g.R. auf.

Herzkrankheiten.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V.g.‰	
1	Frau	37	75	1	Myocarditis
2	„	52	90	1½	Arteriosklerose
3	Mann	53	90	0,6	„
4	„	65	100	4	„
5	„	77	90	9	Arythmia perpetua
6	„	71	65	18	Aneurysma aortae

Wassermann —

Die Herzkrankheiten bewirken an sich keine Vermehrung. Im Falle 4 sowie in 5 und 6 haben wir höhere Werte, aber man

muß im Auge behalten, daß im Spätalter eine intensivere Tätigkeit des Knochenmarks und infolgedessen eine Vermehrung der S.r.f. vorhanden ist.

Tuberkulose.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V.g.‰	
1	Mädchen	21	88	5	Beginnende Tbc.
2	Mann	23	70	4	Beginnende Tbc. Hilus +
3	„	29	100	6	„ Tuberculin Injektionen
4	Mädchen	17	70	6	Sp. Tbc. fiebernd
5	Fräulein	24	70	4	„ „
6	Mann	44	70	3	„ „
7	Frau	31	80	3½	„ „
8	Mann	28	80	3	„ „
9	„	33	75	3	Hilus Tbc. t° 38,6
10	Frau	24	40	0,1	Offene Tbc. t° 39
11	Mann	23	90	0,2	Hilus Tbc. t° normal
12	„	21	60	1	„ „
13	„	31	75	2	Sp. Tbc. „
14	„	21	90	0,1	„ „
15	„	20	90	0,2	„ „
16	„	43	95	0,1	Alter cirrhot. Prozeß
17	„	26	75	4	Sp. Tbc. t° 37,2

Wassermann + +

Es ist sehr bemerkenswert, daß im Beginn der Erkrankung die v.g.R. in höhere Werte zeigen, ein Beweis dafür, daß das Knochenmark reaktionsfähig ist. Dasselbe finden wir auch bei Leichtfiebernden sowie bei den Fiebernden überhaupt.

Schreitet die Krankheit unaufhaltsam weiter, dann verliert auch das Knochenmark seine Reaktionsfähigkeit.

Bei den stationären, nichtfiebernden Fällen sind die Zahlen der Erythrozythen mit S.r.f. fast normal.

Der Fall B zeigt aufs deutlichste, daß das Tuberkelbazillengift den hämatopoetischen Apparat zeigt.

Osteomyelitis.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V. g. ‰	
1	Bursche	16	90	3	Akut t° 38,3
2	„	19	85	0,1	Chronisch

Sehr wahrscheinlich ist, daß die Ursache der leichten Vermehrung der S.r.f. bei den akuten Formen einerseits in der Reizung des Knochenmarkes durch das Gift, andererseits in Steigerung des Stoffwechsels und vermehrten Erythrozytenverbrauche gelegen ist.

Lues.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V. g. ‰	
1	Frau	24	90	0	sek. Stadium
2	„	36	90	0,2	Lues cerebri
3	Mann	67	80	0,1	„ „
4	„	32	90	0,5	Pseudotabes Syphilitica metaebr. Subst.
5	„	42	75	1,6	Lues cerebrosp. mit Blasenlähmung
6	Frau	55	65	7	Tabes dors. metachr. Subst.
7	„	48	90	12	Lues latens
8	Mann	23	90	0,2	Lues cerebrosp. Congenita

Das Charakteristische bei Lues ist das Auftreten von metachr. S. g. f., die wir auch bei Tabes beobachten. Wenn wir mit Cesaris Demel annehmen, daß das Auftreten von metachr. S.r.f. ein Zeichen besonderer Schädigung des Knochenmarkes ist, so sollen wir dann beim Tabes solche Schädigung haben.

Zum Schluß möchte ich unsere Aufmerksamkeit auf die Erscheinung der Schwangerschaft, die eigentlich als rein physiologisch betrachtet werden soll, lenken.

Nr.	Geschlecht	Alter	Hb.	V. g. ‰	
1	Frau	35	80	12	Im ersten Monat der Schw.
2	„	32	70	6	10 Tage nach der Entb.

Wie schon Luzzatto festgesetzt hat ist gegen das Ende der Schwangerschaft eine Zunahme der v.f.R. nachweisbar. Aber bei unserem ersten Falle sieht man, daß diese Zunahme schon im ersten Monat und sogar sehr ausgesprochen ist. Die neuen Funktionen, die der mütterliche Körper auf sich nimmt, sind die Ursachen dieser intensiven Tätigkeit des Knochenmarkes.

In vorstehender Arbeit wurde die Bedeutung des Nachweises v.g.R., die ihnen besonders von italienischen Forschern, in Deutschland namentlich von Nägelie beigelegt wurde in zahlreichen Fällen erprobt. Zunächst am Neugeborenen, dann an Ratten verschiedenen Alters, ferner an erwachsenen Menschen, endlich an Personen, die an Krankheiten litten, welche unseren bisherigen Kenntnissen zufolge keine besondere Rückwirkung auf das Blut haben. Des weiteren wurden im Gegensatz zu diesen Kranke untersucht bei denen teils infolge eines Blutverlustes teils infolge Steigerung des Stoffwechsels, teils infolge von toxischen Einflüssen eine erhöhte, oder auch eine verminderte Tätigkeit der blutbildenden Organe zu erwarten war. Blutkrankheiten im eigentlichen Sinne wurden nicht hereingezogen, da diese einer Bearbeitung von anderer Seite vorbehalten wurde.

Das Ergebnis meiner Studien kann ich als eine Bestätigung der insbesondere von Nägelie ausgesprochenen Ansicht erachten, daß man in dem Auftreten v.g.R. das sicherste und früheste Zeichen einer reaktiven Überfunktion des Markes erblicken dürfe.

Über die eigentlichen Blutkrankheiten existieren in der Literatur Angaben in großem Umfange und ich glaube gerade durch die Untersuchung nicht eigentlicher Blutkrankheiten gezeigt zu haben, daß auch außerhalb jener die Anwendung der Vitalfärbung vom wissenschaftlichen und praktischen Interesse ist.

Literatur-Verzeichnis.

Naegeli O.: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik 1923. Berliner hämatologische Gesellschaft. Folia Hämatologica. IX. Band. Heft 1 1910.

Pappenheim: Prolegomena. Folia Hämatologica. IX. Band. Heft 1. 1910.

Ferrata: Über die klinische und morphologische Bedeutung der vitalfärbbaren Substanz und die basoph. Punkt. Folia Hämatologica. IX. Band. 1910.

Hertz: Beziehungen der vitalfärbbaren Granularsubstanz der R. zu der sogen. basoph. Punktierung derselben. Folia Hämatologica. IX. Band. 1910.

Ferrata und Boselli: Über die basoph. Substanzen. Folia Hämatologica. X. Band. 1910.

Hertz: Die vitalfärbbare Granularsubstanz der R., ihre Natur und Beziehungen zu der sogen. basoph. Punktierung. Folia Hämatologica. X. Band. 1910.

Zoya: Über die Bedeutung und klinischen Wert des Verhältnisses zwischen Erythr. und Leukozytalyse u.s.w. Folia Hämatologica. X. Band. 1910.

Pappenheim: Über die Vitalfärbung und die Natur der vitalfärbbaren Substanzen der Blutkörperchen. Folia Hämatologica. 12, 1911.

Zoya: Über den Hämoglobinstoffwechsel. Folia Hämatologica. 12, 1911.

Pappenheim: Einige Bemerkungen über Metachromasie. Folia Hämatologica. 12, 1911.

Pappenheim: Panchrom. Folia Hämatologika. 11, 1911.

v. Schilling-Torgau: Arbeiten über die Erythrozyten. Folia Hämatologica. 11, 1911.

Luzzatto: Über die Zahl der vitalfärbbaren R. Folia Hämatologica. 13, 1912.

Nierenstein: Über das Wesen der Vitalfärbung. Pflügers Arch. H. d. ges. Physiol. Band 179, H. 4/6, 1920.

Hörsley: Münchn. medzin. Wochenschr. Nr. 23, 1897, S. 625.

Rosin und Bibergeil: Über vitale Färbung. Zeitschr. für kl. Medizin. 1902—1903, LIV.

Rosin und Bibergeil: Über das Verhalten der Leukozyten. Visch. Arch. 1904. Band CLXXVIII.

Steckelmacher: Über die Beziehung des Chondrioms (Blastomen) zu den

Strukt. der vitalen Färbung. Bericht z. path. Anat. m. all. Pathol. Band 66, H. 3, 1920.

Blumenthal O. und Moravitz: Exper. Untersuchungen über posthäm. Anämie und .... Deutsches Arch. f. kl. Medizin. Band XCII, Nr. 1 u. 2.

Toshio Takagi: Morphologische und biologische Studien über Blut. Folia Hämatologica. XXVIII, 1923.

Pappenheim: Einige Bemerkungen. Folia Hämatologica. Band IX. 1910.

Michaelis L.: Die vitale Färbung. Arch. f. mikrosk. Anatomie, 1900,

Michaelis L.: Die Theorie der hist. Färbemethode. Die deutsche Klin. 1906.

Weidenreich F. Weitere Mitteilungen. Arch. f. mikrosk. Anatomie. 1906. Band LXIX.

Pappenheim: Folia Hämatologica. 1907. Band IV.

Lebenslauf.

Geboren am 10. November 1899 zu Tirnowo (Bulgarien), als Sohn des Uhrmachers Jonko Jw. Jonkow. Das Realgymnasium absolvierte ich in meiner Vaterstadt am 17. September 1918.

1920 begann ich an der Grazer Universität Medizin zu studieren. Dort legte ich das erste Rigorosum ab.

Die letzten 5 Semester absolvierte ich in München.